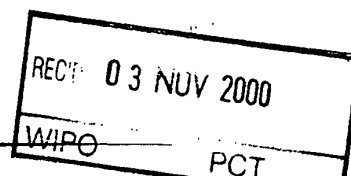


INPI

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

FR 00/2731



4

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 16 OCT. 2000

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE

26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS Cédex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30



v





BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITE

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg

75800 Paris Cédex 08

Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

9512363

TITRE DE L'INVENTION : COPOLYMERES RETICULES A BASE DE COPOLYMERES POLYCARBOXYLIQUES
NON RETICULES

LE(S) SOUSSIGNÉ(S) SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES
(S.C.R.A.S.)
51/53 rue du Docteur Blanche
75016 PARIS
FRANCE

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

1) LABARRE Denis
44 rue des Quatre Cantons
91140 VILLEBON-SUR YVETTE
FRANCE

2) LAMBERT Nada
11 rue Oswaldo Cruz
75016 PARIS
FRANCE

3) DUCOS Cathy
43 rue Diane de Poitiers
28260 ANET
FRANCE

4) DIANCOURT Francis
42 bis rue de Savonnière
28230 EPERNON
FRANCE

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

A. BOURGOUIN, Mandataire

Copolymères réticulés à base de copolymères polycarboxyliques non réticulés

L'invention concerne des copolymères réticulés à base de copolymères polycarboxyliques non réticulés, les dits copolymères non réticulés contenant au moins un polysaccharide. L'invention concerne également un procédé de préparation de ces copolymères et leur utilisation notamment comme support dans les compositions pharmaceutiques.

5 L'invention a ainsi pour objet des copolymères réticulés à base de copolymères polycarboxyliques non réticulés et d'un agent de réticulation, les dits copolymères réticulés caractérisés en ce que :

- l'agent de réticulation comprend aux moins deux fonctions amines ,
- chaque copolymère polycarboxylique non réticulé comprenant au moins un
10 polysaccharide non réticulé lié par liaison covalente à au moins un autre polymère non réticulé non saccharidique, et
- au moins un des polysaccharides et polymères non saccharidiques, constituants du même copolymère non réticulé, est polycarboxylique.

15 L'association d'un polysaccharide avec un autre type de polymère, permet de moduler les propriétés des polysaccharides telles que l'hydrophilie. On peut ainsi obtenir des copolymères avec des propriétés de dégradation appropriées en fonction de leurs applications. Par ailleurs, les copolymères selon l'invention, sont avantageusement préparés en milieu aqueux.

20 Selon l'invention, le polysaccharide peut être polycarboxylique ou non. De même, le polymère non saccharique peut être polycarboxylique ou non. Si l'un de ces deux polymères est non polycarboxylique, l'autre est nécessairement polycarboxylique afin de rendre possible la réticulation. Les deux polymères saccharique et non saccharidique peuvent être tous les deux polycarboxyliques.

25 Les polysaccharides non polycarboxyliques non réticulés peuvent être choisis, par exemple, parmi l'agarose, l'agaropectine, l'amylose, l'amylopectine, l'arabino-galactane, les carraghénanes, la cellulose ou la méthylcellulose, le chitosane, le dextrane, les fucanes et fucoïdanes, les gommes d'adragante, arabiques, de caroube et de guar, ou le pullane, ou encore leurs dérivés substitués non carboxyliques.

Les polysaccharides polycarboxyliques non réticulés peuvent être choisis, par exemple, parmi les glycosaminoglycanes, l'acide pectinique (pectine), l'acide alginique (alginate), les poly(acides sialiques) tels que l'acide colominique, le xanthane, les dérivés carboxyliques des polysaccharides non carboxyliques cités précédemment et notamment
5 ceux du dextrane tels que les carboxyméthyl-dextranes et leurs dérivés, ou encore les dérivés carboxyliques de la cellulose tels que les carboxyméthylcelluloses. Parmi les glycosaminoglycanes, on peut citer l'acide hyaluronique et ses dérivés, la chondroïtine sulfate, l'héparine, le sulfate de dermatane, le sulfate d'héparane, le sulfate de kératane ou un mélange de ces derniers.

10 Parmi les polymères polycarboxyliques non réticulés non saccharidiques, on peut citer le poly(acide glutamique), le poly(acide aspartique), le poly(acide maléique), le poly(acide succinique), le poly(acide itaconique), le poly(acide malique) ou le poly(acide fumarique), les polymères acryliques polycarboxyliques tels que le poly(acide acrylique), le poly(acide méthacrylique) ou les copolymères de ces derniers tels que les Eudragits® L et
15 S.

Parmi les polymères non polycarboxyliques non réticulés et non saccharidiques, on peut citer le poly(acétate de vinyle), le poly(alcool vinylique), les poly(esters acryliques), les poly(esters méthacryliques), les poly(méthacrylamides) et les poly(acrylamides).

L'expression polymères polycarboxyliques, saccharidiques ou non, comprend les
20 polymères tels que définis ci-dessus mais également les dérivés partiellement substitués de ces polymères comme, par exemple, les esters, les amides et les dérivés partiellement ou totalement substitués de ces polymères comme les sels de ces polymères polycarboxyliques.

L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis
25 ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide est polycarboxylique. De préférence, il est choisi parmi l'acide pectinique (pectine), l'acide alginique (alginate), les glycosaminoglycanes, et de préférence l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate, l'héparine, le sulfate de dermatane, le sulfate d'héparane, le sulfate de kératane ou un mélange de ces derniers.

30 L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide est non polycarboxylique. De préférence, il est choisi parmi l'agarose, l'agaropectine, l'amylose, l'amylopectine, l'arabino-galactane, les carraghénanes, la cellulose ou la méthylcellulose, le chitosane, le

dextrane, les fucanes et fucoïdanes, les gommes d'adragante, arabiques, de caroube et de guar, ou le pullane.

5 L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polymère non réticulé non saccharidique est polycarboxylique. De préférence, il est choisi parmi les polymères acryliques polycarboxyliques, et plus particulièrement le poly(acide acrylique) ou le poly(acide méthacrylique).

10 L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polymère non réticulé non saccharidique est non polycarboxylique. De préférence, il est choisi parmi le poly(acétate de vinyle), le poly(alcool vinylique), les poly(esters acryliques), les poly(esters méthacryliques), les poly(méthacrylamides) et les poly(acrylamides).

15 Les copolymères polycarboxyliques non réticulés selon l'invention, sont liés entre eux par un agent de réticulation. Cet agent de réticulation comprend au moins deux fonctions amines qui sont susceptibles de réagir avec les fonctions carboxyliques libres des dits copolymères carboxyliques non réticulés. Il peut être choisi, par exemple, parmi les protéines, les polyamines, les triamines, les diamines, les acides aminés naturels ou synthétiques, ou les dérivés des composés tels que définis ci-dessus comme, par exemple, leurs sels, leurs esters ou leurs amides. Parmi les acides aminés, on peut citer, 20 par exemple, l'arginine, la lysine, l'histidine et l'ornithine. Parmi les diamines, on peut citer l'éthylènediamine, la butanediamine, l'hexanediamine, l'heptanediamine, l'octanediamine ou la dodécanediamine. Parmi les polyamines, on peut citer le chitosane, les poly(éthylène imines), les poly(acide aminé) tels que la polylysine ou la polyornithine, ainsi que les copolymères de ces polyamines. L'agent de réticulation peut également être 25 choisi parmi les composés tels que la spermine, la spermidine, la mélamine, la guanidine ou la diéthylènetriamine. De préférence, l'agent de réticulation utilisé est une diamine et avantageusement l'hexanediamine.

30 L'invention a plus particulièrement pour objet également des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide est un polysaccharide dégradé par la flore microbienne du colon tel que la chondroïtine sulfate, l'acide hyaluronique, l'acide pectinique, l'héparine, le dextrane, le chitosane, l'amylose, la pectine, les alginates ou le xanthane, et plus particulièrement la chondroïtine sulfate ou le chitosane.

L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que le polysaccharide est la chondroïtine sulfate, le polymère non saccharidique est choisi parmi le poly(acide acrylique) et le poly(acide méthacrylique), et l'agent de réticulation est l'hexanediamine.

- 5 L'invention a également pour objet un procédé de préparation de copolymères réticulés tels que définis ci-dessus, ledit procédé caractérisé en ce que l'on fait réagir les dits copolymères polycarboxyliques non réticulés constituant le copolymère réticulé, en présence d'un activateur et d'un agent de réticulation comprenant au moins deux fonctions amine, dans un milieu réactionnel approprié. De préférence, la préparation de
- 10 copolymères réticulés tels que définis ci-dessus s'effectue en milieu aqueux. L'expression milieu aqueux signifie un milieu ne contenant que de l'eau ou de l'eau mélangée avec un ou plusieurs solvants miscibles à l'eau tel que, par exemple, l'acétone, les alcools inférieurs tels que l'éthanol, ou les acides. D'autres agents tels que la N-hydroxysuccinimide, susceptibles de favoriser la réticulation, peuvent également être
- 15 utilisés. De préférence le milieu aqueux ne comprend que de l'eau. La mise en œuvre du procédé selon l'invention peut s'effectuer de différentes manières en faisant varier l'ordre de mise en réaction des différents réactifs. En effet, le procédé peut consister à mélanger ensemble les copolymères polycarboxyliques non réticulés et l'agent de réticulation, puis à rajouter l'activateur. Le procédé de réticulation selon l'invention peut consister
- 20 également à mélanger ensemble les copolymères polycarboxyliques non réticulés et l'activateur, puis à rajouter l'agent de réticulation. Le procédé peut consister également à réticuler un des copolymères polycarboxyliques non réticulés constituant du copolymère réticulé, en mélangeant ce dit copolymère non réticulé avec l'agent de réticulation puis l'activateur ou bien avec l'activateur puis l'agent de réticulation, puis à rajouter dans le
- 25 milieu réactionnel au moins un autre copolymère polycarboxylique non réticulé, pour le réticuler avec le dit copolymère présent dans le mélange réactionnel. Lors de la mise en œuvre du procédé, les réactifs mis en présence peuvent être préalablement solubilisés dans le milieu réactionnel choisi. De préférence, les copolymères polycarboxyliques non réticulés et l'agent de réticulation sont mélangés ensemble dans un milieu aqueux jusqu'à
- 30 solubilisation puis l'activateur est rajouté. Le procédé est mis en œuvre à une température comprise entre -30 et 100° C, de préférence entre 0 et 40° C et de manière très préférentielle à 4° C. La température de mise en œuvre du procédé de réticulation est bien évidemment inférieure aux températures de dégradation ou de décomposition des réactifs mis en présence.
- 35 Les proportions relatives des réactifs que sont les copolymères polycarboxyliques non réticulés, l'agent de réticulation et l'activateur, peuvent varier selon les caractéristiques

des copolymères recherchés. Les copolymères polycarboxyliques non réticulés peuvent varier dans un rapport molaire compris entre 0,01 et 100. Le rapport molaire de l'agent de réticulation par rapport aux fonctions carboxyliques totales peut varier entre 0,01 et 100. Le rapport molaire de l'activateur par rapport aux fonctions carboxyliques totales peut
5 varier entre 0,01 et 100.

L'activateur peut être choisi parmi les agents de couplage classiquement utilisés en synthèse peptidique. Ainsi l'activateur peut être choisi, par exemple, parmi les carbodiimides, des dérivés des quinolines ou des anhydrides mixtes. Comme exemple de carbodiimides, on peut citer les hydrohalogénures tels que l'hydrochlorure de
10 N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthyl carbodiimide (EDC), le N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoéthyl) carbodiimide (CMC). Comme exemple des dérivés des quinolines, on peut citer la 2-éthoxy-N-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline (EEDQ), la N-isobutoxycarbonyl-2-isobutoxy-1,2-dihydroquinoline (IIDQ), la N-isobutoxycarbonyl-2-méthoxy-1,2-dihydroquinoline (IMDQ), la N-isobutoxycarbonyl-
15 2-éthoxy-1,2-dihydroquinoline (IEDQ). Comme exemple d'anhydrides mixtes, on peut citer les chloroformates et plus particulièrement l'isobutylchloroformate (IBC). De préférence, l'activateur utilisé est l'hydrochlorure de N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthyl carbodiimide.

Les copolymères non réticulés peuvent être obtenus par exemple par couplage des
20 polymères correspondants ou par polymérisation radicalaire à partir du polysaccharide et du monomère du polymère non saccharidique.

L'invention a également pour objet un procédé de préparation des copolymères non réticulés tels que définis ci-dessus, ledit procédé caractérisé en ce que l'on greffe sur le polysaccharide, en milieu aqueux sous atmosphère inerte et en présence d'un catalyseur,
25 le monomère du polymère non saccharidique, monomère qui va ensuite polymériser dans ces conditions réactionnelles. L'expression milieu aqueux signifie un milieu ne contenant que de l'eau ou de l'eau mélangée avec un ou plusieurs solvants miscibles à l'eau tel que, par exemple, l'acétone, les alcools inférieurs tels que l'éthanol ou bien les acides. La valeur du pH du milieu réactionnel est adaptée aux réactifs mis en jeu. Le catalyseur
30 utilisé est choisi parmi les catalyseurs communément utilisés par l'homme de l'art comme par exemple les ions cériques. Le procédé est mis en œuvre à une température comprise entre -30 et 100° C, de préférence entre 20 et 60° C et de manière très préférentielle à 40° C. La température de mise en œuvre du procédé est bien évidemment inférieure aux températures de dégradation ou de décomposition des réactifs mis en présence.

Les proportions relatives des réactifs que sont les polysaccharides, les monomères des polymères non saccharidiques et l'agent catalytique, peuvent varier selon les caractéristiques des copolymères réticulés recherchés. Les proportions des réactifs sont définies en fonction des masses moléculaires souhaitées des copolymères polycarboxyliques non réticulés. Les polymères non réticulés peuvent varier dans un rapport d'unité compris entre 0,01 et 100 par rapport aux unités de saccharide.

Les copolymères réticulés selon l'invention peuvent être utilisés, par exemple, dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques, biomédicaux, vétérinaires, chimiques, agrochimiques ou agroalimentaires.

10 Plus particulièrement, l'invention a pour objet une composition pharmaceutique contenant au moins un principe actif et, à titre de support inerte ou d'excipient, au moins un copolymère réticulé selon l'invention. L'expression principe actif désigne toute substance ou mélange de substances ayant une activité thérapeutique.

15 Une telle composition peut être élaborée à partir de ces différents composants par toute technique classique connue de l'homme de l'art. Elle peut se présenter, par exemple, sous forme de comprimés matriciels, de comprimés enrobés par les copolymères de la présente invention, de comprimés multicouches, de pellets matriciels, de pellets ou des microparticules enrobés par les copolymères de la présente invention. Ces microparticules et pellets peuvent être contenus ou non dans des capsules. Elle peut se présenter
20 également sous forme de microparticules ou de nanoparticules dont l'un au moins des constituants est un copolymère de la présente invention ou bien sous toute autre forme permettant une administration orale. Elle peut se présenter également sous toute autre forme adaptée au mode d'administration choisi ou approprié telle que des suppositoires ou des préparations pour application locale ou pour injection. La quantité du principe actif
25 permettant une action pharmacologique efficace, en particulier thérapeutique, peut varier en fonction de la nature du principe actif, de l'âge et/ou de la maladie du patient à traiter.

Grâce à son réseau réticulé, un copolymère selon l'invention peut être utilisé pour une libération prolongée du principe actif. La présente invention a donc également pour objet l'utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'invention pour une libération
30 contrôlée du ou des principes actifs qu'elle contient.

De telles compositions peuvent également posséder d'autres caractéristiques qui dépendent éventuellement des caractéristiques des polymères de départ telles que la bioadhésion. Ainsi, une composition pharmaceutique selon l'invention peut également être utilisée en tant que système pharmaceutique bioadhésif. La présente invention a donc

également pour objet l'utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'invention en tant que système bioadhésif.

Des compositions telles définies ci-dessus dans lesquelles le polysaccharide est dégradable par la flore du colon, peuvent également être utilisée en tant que système à libération spécifique au niveau du colon par action de la flore microbienne. Le concept de la libération spécifique au niveau du colon par action de la flore microbienne, est basé sur la propriété du colon de posséder une flore microbienne très abondante qui, de plus, a la potentialité de métaboliser des substances faiblement ou non dégradées par la partie haute du tube digestif. De telles compositions sont particulièrement adaptées pour véhiculer des principes actifs destinés au traitement des maladies du colon, ce qui permet d'augmenter leur efficacité et de diminuer leurs effets secondaires. Parmi ces principes actifs figurent les stéroïdes telles que la dexaméthasone et l'hydrocortisone, les anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que l'acide 5-aminosalicylique, les antinéoplasiques tels que le méthotrexate, le tamoxifène, les antispasmodiques et les agents chimiothérapiques. De telles compositions sont particulièrement adaptées également pour véhiculer des principes actifs qui sont absorbés de façon plus efficace au niveau du colon tels que les stéroïdes ou la xanthine. Leur administration directe au niveau du colon permet d'augmenter leur efficacité. De telles compositions sont particulièrement adaptées également pour véhiculer des principes actifs qui sont dégradés dans les parties hautes du tube digestif. Parmi ces principes actifs, on peut citer les peptides et les protéines d'origine naturelle ou de synthèse ainsi que les fragments pharmacologiquement actifs tels que les vaccins oraux, l'insuline, les peptides contraceptifs, les peptides activateurs du plasminogène, les peptides de croissance et autres peptides participant aux régulations hormonales.

Les exemples suivants sont présentés pour illustrer les procédures ci-dessus et ne doivent en aucun cas être considérés comme une limite à la portée de l'invention.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Synthèse des copolymères non réticulés

Exemple 1 : synthèse d'un copolymère chondroïtine sulfate -co- acide polyméthacrylique

Dans un erlen bouché, sont dissout à 40°C 250 mg de chondroïtine sulfate (CS) dans 50 ml d'une solution de HNO₃ 0,2 M préalablement dégazée. On y ajoute 3,625 ml d'une solution d'ions cérium (de concentration 8.10^{-2} mole/litre dans HNO₃ 0,2 M préalablement dégazée) et 2,5 ml d'acide méthacrylique. La réaction s'effectue à 40° C pendant environ 50 minutes sous agitation. Après refroidissement, le pH est ramené à 7

avec de la soude. Une solution de citrate 1 M est ajoutée. Le milieu final est alors filtré sur une membrane de taille de pore 10 kilo-dalton par diafiltration tangentielle. L'analyse du copolymère purifié peut être effectuée sur la solution ainsi obtenue ou après une étape de lyophilisation.

- 5 La masse moléculaire du copolymère est évaluée par chromatographie par perméation de gel en phase aqueuse (milieu NaCl 0,2 N). Les colonnes sont étalonnées avec des standards de dextrane de masse moléculaires comprises entre 40 000 et 400 000.

Les masses sont exprimées en masse moléculaires moyennes en masse (M_w) et masse moléculaire au pic du chromatogramme, représentant la majorité de la population macromoléculaire (M_p).

L'indice de polydispersité (I_p) représentant la dispersion des masses sur l'ensemble du copolymère.

Copolymère 1 : $M_w = 170\,000$

$M_p = 78\,000$

$I_p = 5.38$

- 15 Le nombre des groupements carboxyles présents est déterminé par dosage conductimétrique. La solution de copolymère à doser est préalablement éluée sur une résine échangeuse d'ions de type sulfonique (DOWEX 50Wx8). Cette étape préparative permet d'obtenir les copolymères sous forme acide et de doser distinctement toutes les acidités sulfates et carboxylates d'origine polysaccharidique ainsi que les acidités carboxylates d'origine polycarboxylique non saccharidique. La neutralisation de la solution par la soude 0,1 N est ensuite suivie par conductimétrie. Les résultats sont
- 20 exprimés en meqNaOH (mg de NaOH/g de copolymères).

Copolymère 1 : - $1,39.10^{+2}$ meqNaOH (PMA+CS),

- $8,94.10^{+1}$ meqNaOH (PMA) ;

- $5,08.10^{+1}$ meqNaOH (CS).

Le spectre RMN- ^{13}C du copolymère (PMA+CS) comprend les pics caractéristiques de la CS et du PMA, à savoir respectivement le massif entre 51 et 105 ppm correspondant aux carbones portés par les glucuroniques et galactosamine, le pic caractéristique du N-acétyl centré à 175 ppm, et les signaux correspondant aux méthyles (19,2 ppm) et aux

carboxyles (186,4 ppm) de l'acide polyméthacrylique. Mais ce spectre comprend également les signaux qui n'appartiennent à aucune des deux entités (119,8 et 181,4 ppm) et que l'on attribue aux liaisons entre la CS et le PMA. Cette analyse met en évidence la polymérisation de l'acide méthacrylique sur la CS.

- 5 Exemple 2 : synthèse de copolymères chondroïtine sulfate -co- acide polyméthacrylique de masse moléculaires et ratio CS/PMA variables.

Des masses moléculaires ainsi que des ratio CS/PMA différents peuvent être obtenus en modifiant les proportions de réactifs introduits et notamment :

- modification de la quantité de cérium.
- 10 - modification de la quantité d'acide méthacrylique
- modification de la molarité de la solution d'acide nitrique.

Ces études montrent des différences de masses significatives entre les polymère synthétisés (données GPC).

- 15 Dans un erlen bouché, sont dissout à 40° C 250 mg de chondroïtine sulfate dans 50 ml d'une solution de HNO_3 , X M préalablement dégazée. On y ajoute Y ml d'une solution d'ions cérium. (de concentration 8.10^{-2} mole/litre dans HNO_3 , X M préalablement dégazée) et Z ml d'acide méthacrylique. La réaction s'effectue à 40° C pendant environ 50 minutes sous agitation. Après refroidissement, le pH est ramené à 7 avec de la soude. Une solution de citrate 1M est ajoutée. Le milieu final est alors filtré sur une membrane de
- 20 taille de pore 10 kilo-dalton par diafiltration tangentielle.

L'analyse du copolymère purifié peut être effectuée sur la solution ainsi obtenue ou après une étape de lyophilisation.

- 25 Les conditions opératoires ainsi que la masse moléculaire des copolymères purifiés (déterminée par chromatographie aqueuse par perméation de gel) sont reportées sur le tableau ci-dessous :

| | concentration $\text{HNO}_3 = X$ | Concentration cérium = Y' | volume de MA = Z | masse moléculaire |
|--|-------------------------------------|-------------------------------|------------------|--|
| | 0.2M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 0,1 ml | Mp= 70 000 Mw= 138 000 Ip = 3 |
| | 0.2M | $1,1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ | 0,1 ml | Mp= 48 000 Mw= 81 000 Ip = 3 |
| | 0.2M | $1,7 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ | 0,1 ml | Mp= 31 000 Mw= 48 000 Ip = 3 |
| Variation Concentration HNO_3 | 0.05M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 0.5 ml | Mp= 79 000 Mw= 194 000 Ip = 3.29 |
| | 0.05M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 1,25ml | Mp= 225 000 Mw= 245 000 Ip = 13.99 |
| | 0.05M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 2,5 ml | Mp= Mw= > standards Ip = |
| | 0.1M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 0.5 ml | Mp= 69 000 Mw= 147 000 Ip = 3.17 |
| | 0.1M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 1,25 ml | Mp= 80 000 Mw= 180 000 Ip = 3.58 |
| | 0.1M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 2,5 ml | Mp= 77 000 Mw= 140 000 Ip = 3.60 |
| | 0.2M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 0.5 ml | Mp= 61 000 Mw= 160 000 Ip = 3.49 |
| | 0.2M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 1,25ml | Mp= 80 000 Mw= 190 000 Ip = 2.94 |
| | 0.2M | $5,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | 2,5 ml | Mp= 80 000 Mw= 170 000 Ip = 2.72 |
| | | | | |

Réticulation des copolymères synthétisés

Exemple 3

100 mg du copolymère obtenu dans l'exemple 1, du diaminohexane et du N-hydroxysuccinimide sont dissous dans 2 ml d'une solution aqueuse contenant de la triéthylamine de façon à avoir un pH final de 8,5-9,5. On ajoute de l'EDC. On maintient le pH à 8,5-9,5 pendant 24 h à 4° C. On lave les précipités obtenus avec des solutions de NaCl 5 M puis avec de l'eau bidistillée. Puis on lyophilise les précipités puis on détermine la masse.

Les quantités de diaminohexane, d'EDC et de N-hydroxysuccinimide étudiées sont les suivantes

| Préparation | A | B | C |
|-------------------------|-----|-----|-----|
| EDC(mg) | 320 | 170 | 170 |
| diaminohexane(mg) | 160 | 160 | 80 |
| hydroxysuccinimide(mg) | 310 | 310 | 155 |
| Masse du précipité (mg) | 180 | 17 | 80 |

Exemple 4

On dissout à 4° C 100 mg du copolymère obtenu dans l'exemple 1, 160 mg de diaminohexane et 310 mg de N-Hydroxysuccinimide dans 2 ml de tampon borate de pH9. On ajoute 320mg d'EDC. On laisse la réaction se faire à 4° C pendant 24 heures sous agitation. On lave les précipités obtenus avec des solutions de NaCl 5 M puis avec de l'eau bidistillée. Puis on lyophilise les précipités. La masse du précipité obtenu est de 100 mg.

Exemple 5

On dissout à 4° C 100 mg du copolymère obtenu dans l'exemple 1, 160 mg de diaminohexane et 310 mg de N-hydroxysuccinimide dans 2 ml de tampon bicarbonate de pH9. On ajoute 320 mg d'EDC. On laisse la réaction se faire à 4° C pendant 24 heures sous agitation. On lave les précipités obtenus avec des solutions de NaCl 5 M puis avec

de l'eau bidistillée. Puis on lyophilise les précipités. La masse du précipité obtenu est de 50 mg.

REVENDICATIONS

1- Copolymères réticulés à base de copolymères polycarboxyliques non réticulés et d'un agent de réticulation comprenant au moins deux fonctions amine, caractérisés en ce que :

5 chaque copolymère polycarboxylique non réticulé comprend au moins un polysaccharide non réticulé lié par liaison covalente à au moins un autre polymère non réticulé non saccharidique,

et au moins un des polysaccharides et polymères non saccharidiques, constituants du même copolymère non réticulé, est polycarboxylique.

2- Copolymères selon la revendication 1, caractérisés en ce que le polysaccharide est non polycarboxylique.

10 3- Copolymères selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisés en ce que le polysaccharide non polycarboxylique est choisi parmi l'agarose, l'agaropectine, l'amylose, l'amylopectine, l'arabino-galactane, les carraghénanes, la cellulose ou la méthylcellulose, le chitosane, le dextrane, les fucanes et fucoïdanes, les gommés d'adragante, arabiques, de caroube et de guar, ou le pullane.

15 4- Copolymères selon la revendication 1, caractérisés en ce que le polysaccharide est polycarboxylique.

5- Copolymères selon l'une des revendications 1 ou 4, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est choisi parmi les glycosaminoglycanes, l'acide pectinique ou alginique.

20 6- Copolymères selon l'une des revendications 1, 4 ou 5, caractérisés en ce que le polysaccharide polycarboxylique est un glycosaminoglycane choisi parmi l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate, l'héparine, le sulfate de dermatane, le sulfate d'héparane, le sulfate de kératane.

25 7- Copolymères selon la revendication 1 à 6, caractérisés en ce que le polymère non saccharidique est non polycarboxylique.

8- Copolymères selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisés en ce que le polymère non saccharidique non polycarboxylique est choisi parmi, le poly(acétate de vinyle), le

poly(alcool vinylique), les poly(esters acryliques), les poly(esters méthacryliques), les poly(méthacrylamides) et les poly(acrylamides).

9- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que le polymère non saccharidique est polycarboxylique.

- 5 10- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou 9, caractérisés en ce que le polymère non saccharidique est un polymère acrylique polycarboxylique.

11- Copolymères selon la revendication 10, caractérisés en ce que le polymère acrylique polycarboxylique est le poly(acide acrylique) ou le poly(acide méthacrylique).

- 10 12- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans lesquels l'agent de réticulation est choisi parmi les diamines, les acides aminés naturels ou synthétiques ou les polyamines, et préférentiellement les diamines.

13- Copolymères selon la revendication 12 dans lesquels la diamine est choisie parmi l'éthylènediamine, la butanediamine, l'hexanediamine, l'heptanediamine, l'octanediamine et la dodécanediamine.

- 15 14- Copolymères selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisés en ce que le polysaccharide est dégradable par la flore du colon.

15- Copolymères selon la revendication 14, caractérisés en ce que le polysaccharide est choisi parmi la chondroïtine sulfate, l'acide hyaluronique, l'acide pectinique, l'héparine, le dextrane, le chitosane, l'amylose, la pectine, les alginates ou le xanthane.

- 20 16- Copolymères selon l'une quelconque des revendications 14 à 15, caractérisés en ce que le polysaccharide est la chondroïtine sulfate, l'autre dit polymère non saccharidique est le poly(acide acrylique) ou le poly(acide méthacrylique), et l'agent de réticulation est l'hexanediamine.

- 25 17- Procédé de préparation de copolymères réticulés selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce que l'on fait réagir, en milieu aqueux, les dits copolymères polycarboxyliques non réticulés, en présence d'un activateur et dudit agent de réticulation.

18- Procédé selon la revendication 17, dans lequel l'activateur est choisi parmi les carbodiimides, les dérivés des quinolines et les anhydrides mixtes.

19- Procédé de préparation de copolymères non réticulés selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on greffe sur le polysaccharide, en milieu aqueux sous atmosphère inerte et en présence d'un catalyseur, le monomère du polymère non saccharique, monomère qui va ensuite polymériser dans ces conditions réactionnelles.

5 20- Procédé selon la revendication 19, dans lequel le catalyseur est les ions cériques.

21- Composition pharmaceutique contenant au moins un principe actif et, à titre de support inerte ou d'excipient, au moins un copolymère réticulé selon l'une des revendications 1 à 13.

10 22- Composition pharmaceutique contenant au moins un principe actif et, à titre de support inerte ou d'excipient, au moins un copolymère selon l'une des revendications 14 à 16.

23- Utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'une des revendications 21 à 22 pour une libération contrôlée.

15 24- Utilisation d'une composition pharmaceutique selon l'une des revendications 21 à 22 en tant que système pharmaceutique bioadhésif.

25- Utilisation d'une composition pharmaceutique selon la revendication 22 pour une libération spécifique du principe actif au niveau du colon.

26- Utilisation selon la revendication 25 pour véhiculer le principe actif destiné au traitement des maladies du colon.

20 27- Utilisation selon la revendication 25 pour véhiculer le principe actif qui est absorbé au niveau du colon.

28- Utilisation selon la revendication 25 pour véhiculer le principe actif qui est dégradé dans les parties hautes du tube digestif.

